	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10325.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	3

STANOVENÍ OBSAHU MĚDI, ŽELEZA, MANGANU A ZINKU METODOU FAAS

1 Účel a rozsah

Tato metoda specifikuje podmínky pro stanovení obsahu mědi, manganu, zinku a železa ve vzorcích krmiv metodou plamenové atomové absorpční spektrofotometrie (FAAS).


2 Princip

Vzorek se převede do roztoku pomocí kyseliny chlorovodíkové buď přímo, nebo po zpopelnění vzorku. Uvedené prvky se po naředění stanoví metodou plamenové atomové absorpční spektrofotometrie s vhodnou korekcí nespecifické absorpce.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Kyselina chlorovodíková, HCl, koncentrovaná, 35%, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.
- 2 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 3 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok, $c(\text{HCl}) = 3 \text{ mol/l}$.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 500 ml vody (2) a přidá se 265 ml kyseliny chlorovodíkové (1). Po vytemperování se doplní po značku a promíchá.
- 4 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/l}$.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 400 ml vody (2) a přidá se 530 ml kyseliny chlorovodíkové (1). Po vytemperování se doplní po značku a promíchá.
- 5 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok, $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 800 ml vody (2) a přidá se 88 ml kyseliny chlorovodíkové (1). Po vytemperování se doplní po značku a promíchá.
- 6 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok, $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 500 ml vody (2) a přidá se 27 ml kyseliny chlorovodíkové (1). Po vytemperování se doplní po značku a promíchá.
- 7 Základní standardní roztoky Zn, Fe, Mn, Cu o koncentraci 1000 mg/l.
- 8 Acetylen, čistý pro FAAS.
- 9 Vzduch.
- 10 Dusičnan amonný, NH_4NO_3 , roztok 200 g/l.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10325.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	3

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Atomový absorpční spektrofotometr s korekcí nescifické absorpce a příslušnými výbojkami.
- 2 Křemenné nebo porcelánové spalovací kelímky předem vyvařené v kyselině chlorovodíkové (4), vysušené a vyžíhané při (550 ± 20) °C.
- 3 Muflová pec s automatickou regulací teploty pro rozsahy teplot do 650 °C.
- 4 Elektrická topná deska nebo plynový kahan.
- 5 Filtrační papír střední hustoty, bezpopelný.
- 6 Sušárna laboratorní elektrická, s možností odvětrávání, automatickou regulací teploty a teploměrem pro rozsah teplot nejméně do 120 °C.
- 7 Analytické váhy s přesností nejméně 0,001g.

Poznámky

- 1 *Lze použít i platinové kelímky. V takovém případě se musejí dodržovat pravidla pro práci s platinovým nádobím. Platinové kelímky nelze použít pro analýzu premixů a minerálních surovin.*

5 Postup mineralizace

Pokud vzorek obsahuje organickou hmotu, postupuje se podle 5.1.

Vzorky minerálního původu se zpracovávají podle 5.2.


Poznámky

- 2 *Zjištění přítomnosti organické hmoty: lžička se vzorkem se vloží do plamene. Pokud dojde k tání, vzorek organickou hmotu neobsahuje. Pokud dojde ke změně barvy a tání se neobjeví, vzorek organickou hmotu obsahuje.*

5.1 Rozklad vzorků krmiv organického původu na suché cestě

Do spalovacího kelímku se podle předpokládaného obsahu prvků odváží asi 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně 0,001 g a obsah kelímku se pozvolna zpopelní na elektricky vyhříváné desce nebo na kahanu. Potom se kelímek se zuhelnatěným vzorkem vloží do muflové pece a spaluje se 3 h při teplotě (550 ± 20) °C. Po uplynutí této doby se kelímek vyjme, nechá se zchladit v exsíkátoru a spálený vzorek se vizuálně posoudí na přítomnost uhlíkatých částic. Jsou-li ještě přítomny, spaluje se za výše uvedených podmínek ještě 1 h (poznámka 3).

Alternativním postupem je spalování navážky vzorku ve spalovacím kelímku v muflové peci. Kelímek se umístí do studené muflové pece, teplota se postupně zvyšuje a po dosažení teploty (550 ± 20) °C se spaluje 5 h. Poté se kelímek nechá vychladnout a zkontroluje se přítomnost uhlíkatých částic. Jsou-li ještě přítomny, spaluje se za výše uvedených podmínek ještě 1 h.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10325.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou FAAS	Revize	3

Pokud jsou i pak uhlíkaté částice přítomny, nechá se miska vychladnout, vzorek se zvlhčí několika kapkami roztoku dusičnanu amonného (10), kelímek se vysuší v sušárně při 103 °C do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě (550 ± 20) °C se spaluje 1 h (poznámka 3).

Po ochlazení se popel mírně zvlhčí vodou (2) a pomocí kyseliny chlorovodíkové (3) se kvantitativně převede do 250ml kádinky. Celkové množství roztoku kyseliny chlorovodíkové nemá překročit 75 ml. Kádinka se přikryje krycím sklíčkem, obsah se uvede do varu a vaří se asi 15 min. Obsah kádinky se ještě za horka filtruje přes středně hustý filtrační papír do 250ml odměrné baňky. Filtr se několikrát promyje horkou vodou (2). Filtrát v odměrné baňce se vytemperuje, doplní vodou (2) po značku a promíchá (zásobní roztok).

Pro každou měřenou sérii se připraví slepý pokus tak, že se provedou stejné operace bez zkušební vzorku.

Poznámky

3 *Dusičnan amonný se musí přidávat opatrně, aby se zamezilo dispergování popela nebo tvoření hrudek.*

5.2 Rozklad vzorků krmiv minerálního původu na mokré cestě

Do 250ml kádinky se naváží 1 g až 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně 0,001 g. Postupně se za občasných promíchání přidá 100 ml kyseliny chlorovodíkové (4) a přikryje se hodinovým sklíčkem. Po ukončení bouřlivé reakce se kádinka nechá přikrytá krycím sklíčkem, obsah se uvede do mírného varu a vaří se 15 min. Obsah kádinky se ještě za horka filtruje přes středně hustý filtrační papír do 250ml odměrné baňky. Filtr se několikrát promyje horkou vodou (2). Filtrát v odměrné baňce se vytemperuje, doplní vodou (2) po značku a promíchá (zásobní roztok). Podle očekávaného obsahu jednotlivých prvků se tento mineralizát měří buď přímo, nebo po potřebném naředění kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6).


Pro každou měřenou sérii se připraví slepý pokus tak, že se provedou stejné operace bez zkušební vzorku.

6 Měření, příprava kalibračních roztoků a křivek

6.1 Příprava kalibračních roztoků a křivky pro měď

Pracovní standardní roztok mědi S1: ze základního certifikovaného standardního roztoku o koncentraci mědi 1000 mg/l (7) se do 100ml odměrné baňky pipetuje 10 ml, baňka se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6) a promíchá se. Pracovní standardní roztok S1 obsahuje měď o koncentraci 100 mg/l.

Pracovní standardní roztok mědi S2: z pracovního standardního roztoku S1 o koncentraci 100 mg/l se pipetuje 10 ml do 100ml odměrné baňky, baňka se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6) a promíchá se. Pracovní standardní roztok S2 obsahuje měď o koncentraci 10 mg/l.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10325.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	3

Kalibrační křivka: do 100ml odměrných baněk se pipetuje 0, 1, 2.5, 5, 10, 20, 25, 40 ml pracovního standardního roztoku S2 a baňky se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6). Koncentrace mědi v roztocích pro konstrukci kalibrační křivky je 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 4.0 mg/l.

6.2 Příprava kalibračních roztoků a kalibrační křivky pro mangan

Pracovní standardní roztok manganu: ze základního certifikovaného standardního roztoku o koncentraci železa 1000 mg/l (7) se do 100ml odměrné baňky pipetuje 5 ml, baňka se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6) a promíchá se. Pracovní standardní roztok obsahuje mangan o koncentraci 50 mg/l.

Kalibrační křivka: do 100ml odměrných baněk se pipetuje 0, 1, 2, 4, 5, 6 a 10 ml pracovního standardního roztoku a baňky se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6). Koncentrace manganu v roztocích pro konstrukci kalibrační křivky je 0, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0 a 5.0 mg/l.

6.3 Příprava kalibračních roztoků a kalibrační křivky pro železo

Pracovní standardní roztok železa: ze základního certifikovaného standardního roztoku o koncentraci železa 1000 mg/l (7) se do 100ml odměrné baňky pipetuje 5 ml, baňka se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6) a promíchá se. Pracovní standardní roztok obsahuje železo o koncentraci 50 mg/l.

Kalibrační křivka: do 100ml odměrných baněk se pipetuje 0, 1, 2, 4, 5, 6 a 10 ml pracovního standardního roztoku a baňky se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6). Koncentrace železa v roztocích pro konstrukci kalibrační křivky je 0, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0 a 5.0 mg/l.


6.4 Příprava kalibračních roztoků a kalibrační křivky pro zinek

Pracovní standardní roztok zinku: ze základního certifikovaného standardního roztoku o koncentraci zinku 1000 mg/l (7) se do 100ml odměrné baňky pipetuje 5 ml, baňka se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6) a promíchá se. Pracovní standardní roztok obsahuje zinek o koncentraci 50 mg/l.

Kalibrační křivka: do 100ml odměrných baněk pipetuje 0, 1, 2, 4, 5, 6 a 10 ml pracovního standardního roztoku a baňky se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (5 nebo 6). Koncentrace zinku v roztocích pro konstrukci kalibrační křivky je 0, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0 a 5.0 mg/l.

Poznámky

- 4 *Koncentrace vybraných prvků musejí ležet v rozsahu citlivosti použitého atomového absorpčního spektrofotometru. V případě potřeby se mohou využít pro měření i jiné*

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10325.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	3

vlnové délky nebo atomové koncentrátořy a tím změnit nebo rozšířit koncentrační rozsah stanovení.

6.5 Měření

Měří se v plameni acetylen-vzduch se šterbinovým hořákem o délce 10 cm umístěným buď v optické ose přístroje, případně vhodně natočeným k optické ose přístroje. Nastavení závisí na použité vlnové délce a koncentraci. Měření probíhá s použitím korekce nespécifické absorpce. V tabulce 1 jsou uvedeny doporučené vlnové délky. Nastavení přístroje, zejména proud pro žhavení dutokatodových výbojek, optická šířka šterbiny, průtoky plynů apod. se provede podle doporučení výrobce. Integrace signálu probíhá obvykle 3 s po prodlevě pro ustálení signálu. Měří se metodou kalibrační křivky. V průběhu měření se vždy po změření 10 až 20 vzorků kontroluje stabilita měření zařazováním kalibračních standardů a je-li třeba, přístroj se rekalibruje.

Tabulka 1. Doporučené vlnové délky pro měření.

Prvek	Cu	Mn	Fe	Zn
Vlnová délka (nm)	324,8	279,5 403,1	248,3 372,0	213,9

Poznámky

5 *Pro stanovení manganu a železa ve vyšších koncentracích pro vlnové délky 403,1 nm a 372,0 nm není nutné použití korektoru nespécifické absorpce.*

7 Výpočet a vyjádření výsledků

Výsledná koncentrace prvku ve vzorku se vypočte podle vztahu

$$X = (C - C_0) \times V \times f / m$$

kde

- X je obsah prvku ve vzorku (mg/kg),
- C je koncentrace prvku v mineralizátu vzorku (mg/l),
- C₀ je koncentrace prvku ve slepém stanovení (mg/l),
- V je celkový objem mineralizátu (ml),
- f je faktor ředění vzorku před měřením,
- m je hmotnost navážky vzorku (g).